

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CAROLINE SCHOVANZ SCHENKNECHT

INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO 276G>T DO GENE ADIPOQ NA PERDA  
DE PESO E VARIAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO EM MULHERES OBESAS DA  
REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA.

Curitiba

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CAROLINE SCHOVANZ SCHENKNECHT

INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO 276G>T DO GENE ADIPOQ NA PERDA DE PESO E VARIAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO EM MULHERES OBESAS DA REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA.

Trabalho apresentado como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina, no curso graduação em Biomedicina da Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Profa. Dra. Lupe Furtado Alle

Curitiba

2014

## TERMO DE APROVAÇÃO

CAROLINE SCHOVANZ SCHENKNECHT

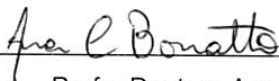
INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO G276T DO GENE ADIPOQ NA PERDA DE PESO E VARIAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO EM MULHERES OBESAS DA REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA.

Trabalho apresentado como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina, no curso de graduação em Biomedicina da Universidade Federal do Paraná, pela seguinte banca examinadora:



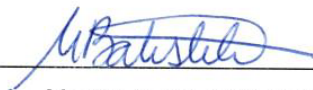
Profa. Doutora Lupe Furtado Alle

Orientadora – Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, UFPR.



Profa. Doutora Ana Claudia Bonatto

Professora – Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, UFPR.



Mestre Meire Silva Batistela

Doutoranda – Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, UFPR.

Curitiba, 01 de dezembro de 2014.

## **AGRADECIMENTOS**

Obrigada a Deus, pela vida e tudo que sou.

Obrigada à minha família, pai, mãe e irmão, por todo amor, apoio e incentivo.

Obrigada a Prof Lupe, que sempre foi fonte de inspiração pelo conhecimento e entusiasmo pela ciência.

Obrigada a Lu, pela motivação, instrução e por guiar meus passos neste TCC. Sua ajuda foi muito importante.

Obrigada a Débora, querida amiga e companheira de laboratório, por todas as PCRs, horas no nano e centenas de extrações de DNA. Obrigada por fazer destes momentos de alegria.

Obrigada aos demais colegas de laboratório por toda ajuda.

Um sincero muito obrigado a todos aqueles que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

Adiponectina é um hormônio proteico expresso exclusivamente no tecido adiposo. Tem função autócrina, parácrina e endócrina, promovendo diferenciação e aumento da acumulação de lipídios em adipócitos maduros e atuando como um potente sensibilizador a insulina no músculo e no fígado, regulando a homeostase energética e tolerância à glicose. Indivíduos obesos ou com sobrepeso apresentam níveis plasmáticos de adiponectina menores que indivíduos com peso normal. No íntron 2 do gene que codifica a adiponectina, *ADIPOQ*, encontra-se o polimorfismo *276G>T* (rs1501299) que já foi associado aos níveis plasmáticos de adiponectina, resistência a insulina e obesidade. O presente trabalho busca investigar a associação entre o polimorfismo *276G>T* do gene *ADIPOQ* e obesidade, avaliando o efeito deste variante na resposta à intervenção dietética em mulheres adultas obesas, bem como avaliar a influência deste polimorfismo no perfil lipídico, perda de peso e variáveis antropométricas. Para tanto, 185 mulheres adultas pré-menopausa passaram por uma intervenção dietética com duração de sete semanas e foram genotipadas para o polimorfismo *276G>T*, também foi analisado um grupo controle de 54 mulheres não obesas (IMC<25) para comparação das frequências alélicas com o grupo de mulheres obesas. A extração do DNA para as análises foi feita a partir do lisado de leucócitos por técnica de *salting-out* e a genotipagem pelo método *TaqMan SNP Genotyping Assay*. A intervenção dietética resultou em diminuição do IMC, circunferência da cintura e razão cintura/altura. Não foram encontradas alterações em LDL e triglicerídeos, embora tenha ocorrido redução significativa do HDL ( $p<0,0001$ ) e colesterol total ( $p=0,01$ ). Não foram encontradas diferenças entre as frequências alélicas ( $p=0,76$ ) e genotípicas ( $p=0,17$ ) entre o grupo controle e o grupo de indivíduos obesos estudado. Indivíduos portadores do genótipo GT apresentaram níveis médios de TG significativamente menores se comparados aos indivíduos homocigotos para o alelo comum (GG) ( $p=0,04$ ), e o alelo raro *276T* foi mais frequente dentre os indivíduos que apresentaram maior redução de CT após a intervenção ( $p=0,04$ ), provavelmente devido a diminuição da síntese de VLDL e aumento da atividade da LPL que leva ao aumento do catabolismo de quilomícrons e partículas de VLDL.

Palavras chave: adiponectina, *276G>T*, rs1501299, obesidade, *ADIPOQ*, intervenção dietética.

## ABSTRACT

Adiponectin is a protein expressed exclusively in adipose tissue. It has autocrine, paracrine and endocrine function, promoting differentiation and increased lipid accumulation in mature adipocytes and acting as a potent sensitizer insulin in muscle and liver, regulating the energy homeostasis and glucose tolerance. Obese or overweight individuals have lower plasma adiponectin levels than individuals with normal weight. In intron 2 of the gene encoding adiponectin, *ADIPOQ*, lies the polymorphism 276G>T (rs1501299) that has been associated with plasma levels of adiponectin, insulin resistance and obesity. This study aims to investigate the association between the polymorphism 276G>T of *ADIPOQ* gene and obesity, evaluating the effect of this variant in response to dietary intervention in obese adult women, as well as to evaluate the influence of this polymorphism on lipid profile, weight loss and anthropometric variables. For this purpose, 185 premenopausal adult women have undergone a dietary intervention lasting for seven weeks and were genotyped for the polymorphism 276G>T. A control group of 54 non-obese women (BMI <25) was also analyzed for comparisons of allele and genotype frequencies with the group of obese women. The DNA was extracted from leukocyte lysate by salting-out technique and the genotyping by *TaqMan SNP Genotyping Assay*. Dietary intervention resulted in a decrease in BMI, waist circumference and waist/height ratio. No changes in LDL and triglycerides were found, although there was a significant reduction in HDL cholesterol ( $p < 0.0001$ ) and total cholesterol ( $p = 0.01$ ). No differences were found in the allele frequency ( $p = 0.76$ ) and genotype distribution ( $p = 0.17$ ) between obese and control groups. Subjects with GT genotype had significantly lower mean levels of TG compared to homozygotes for the common allele (GG) ( $p = 0.04$ ), and the rare 276T allele was more frequent among subjects who showed greater reduction in CT after intervention ( $p = 0.04$ ), probably due to decreased synthesis of VLDL and increasing LPL activity that leads to increased catabolism of chylomicrons and VLDL particles.

Keywords: adiponectin, 276G> T, rs1501299, obesity, *ADIPOQ*, dietary intervention.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CT – Colesterol Total

HDL – Lipoproteína de Alta Densidade (do inglês: *High Density Lipoprotein*)

HDL-C – Colesterol HDL

IMC – Índice de Massa Corporal

LDL – Lipoproteína de Baixa Densidade (do inglês: *Low Density Lipoprotein*)

LDL-C – Colesterol LDL

OMS – Organização Mundial da Saúde

SNP – Polimorfismo de Nucleotídeo Único (do inglês: *Single Nucleotide Polymorphism*)

SNPs – Polimorfismos de Nucleotídeo Único (do inglês: *Single Nucleotide Polymorphisms*)

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TG - Triglicerídeos

VIGITEL - Vigilância de Fatores de Risco e Proteção Para Doenças Crônicas Por Inquérito Telefônico.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	7
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	8
2.1. OBJETIVO GERAL.....	8
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	8
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	9
3.1. OBESIDADE.....	9
3.1.1. Índice de Massa Corporal.....	10
3.2. NUTRIÇÃO E OBESIDADE.....	10
3.3. GENÉTICA E OBESIDADE.....	11
3.4. ADIPONECTINA.....	12
3.4.1. ADIPOQ e o rs1501299.....	14
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	17
4.1. AMOSTRA.....	16
4.1.1. Critérios de Inclusão.....	18
4.1.2. Critérios de Exclusão.....	18
4.2. INTERVENÇÃO ALIMENTAR.....	18
4.3. PARÂMENTROS ANTROPOMÉTRICOS.....	19
4.4. PARÂMETROS BIOQUÍMICOS.....	20
4.5. EXTRAÇÃO DE DNA.....	20
4.6. GENTOTIPAGEM POR TaqMan.....	21
4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	22
<b>5 ARTIGO:</b> .....	23
EFEITO DA VARIANTE 276G>T DO GENE ADIPOQ EM MULHERES OBESAS SUBMETIDAS A UM PROGRAMA DE INTERVENÇÃO DIETÉTICA	
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	49
<b>7. REFERÊNCIAS</b> .....	50



## 1. INTRODUÇÃO

Há trinta mil anos atrás, armazenar energia era uma situação não só desejável, mas necessária para a sobrevivência. Os indivíduos mais adaptados eram aqueles que conseguiam armazenar maior quantidade de energia e assim sobreviver de maneira mais eficiente à escassez de alimentos (HASLAM, 2007). Com o desenvolvimento da agricultura e posteriormente a Revolução Industrial, a composição da dieta e o gasto energético sofreram grandes alterações. O açúcar refinado foi introduzido à alimentação, o consumo de sódio aumentou dramaticamente e o de potássio diminuiu. Ao mesmo tempo nosso modo de vida minimizou o gasto calórico (PIJL, 2011). Assim, a atual epidemia global de obesidade resulta de uma combinação de suscetibilidade genética, aumento da disponibilidade de alimentos ricos em energia e diminuição de atividade física na sociedade moderna, ou seja, o desenvolvimento da obesidade é dependente da interação de fatores ambientais e genéticos.

Os fatores genéticos têm sido estudados visando ampliar a compreensão sobre a obesidade e o controle de peso. A perda de peso em resposta às mudanças dietéticas ou estratégias como exercício, drogas ou cirurgia, é altamente complexa e com grande variabilidade individual. Esta variabilidade pode estar relacionada com a genética, de modo que indivíduos tenham respostas diferentes a estímulos semelhantes.

O gene *ADIPOQ*, localizado no braço longo do cromossomo 3, codifica a proteína adiponectina, a qual é expressa exclusivamente no tecido adiposo. Um dos polimorfismos deste gene é o 276G>T. Estudos já relacionaram esse polimorfismo a obesidade, diabetes e dislipidemias.

Deste modo, este trabalho tem por objetivo investigar a associação entre a variante 276G>T do gene *ADIPOQ* e a obesidade, avaliando o efeito desta variante na resposta à intervenção dietética em amostras de 185 mulheres adultas obesas submetidas à uma intervenção dietética personalizada e em 54 amostras de mulheres não obesas.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

- Investigar a associação entre a variante 276G>T do gene *ADIPOQ* e a obesidade, bem como a influência desse gene nos efeitos de uma intervenção dietética.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Comparar a frequência do polimorfismo 276G>T em grupos de mulheres obesas e não obesas;
- Avaliar a influência do polimorfismo genético nas variáveis antropométricas e bioquímicas antes e após a intervenção dietética;
- Verificar se há variação dos parâmetros antropométricos e bioquímicos após a intervenção dietética.

## 4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 4.1 OBESIDADE

Define-se obesidade como o acúmulo excessivo de tecido adiposo que causa prejuízos à saúde, sendo sua causa fundamental o desequilíbrio energético entre as calorias consumidas e as calorias gastas. É uma doença crônica não transmissível (DCNT) que atinge cerca de 500 milhões de pessoas no mundo (WHO, 2013). No Brasil, dados da Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL, 2012) demonstram que, no conjunto da população adulta das 27 capitais, a prevalência de adultos obesos, no período de 2006 a 2012, passou de 15% para 17,4%. No sexo masculino, a prevalência da obesidade foi de 16,5%; e entre as mulheres, a obesidade atingiu 18,2%. As mulheres tendem a ser mais propensas a esta doença que os homens, em todas as regiões de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) (WHO, 2008).

Cerca de 2,8 milhões de adultos morrem a cada ano por consequências do excesso de peso (WHO, 2013). Em adultos, a obesidade está associada com um risco aumentado de doenças tais como diabetes tipo 2, doença cardíaca coronária, hipertensão, diferentes tipos de câncer e osteoartrite (WHO, 2013). Em 2002, a proporção da carga global de doenças atribuíveis ao aumento do Índice de Massa Corporal (IMC) foi de 58% para diabetes tipo 2, 21% para doença isquêmica do coração, 39% para hipertensão, 23% para acidente vascular cerebral isquêmico, 12% para câncer de cólon, 8% para o câncer de mama pós-menopausa e 32% para câncer de endométrio e de 13% para a osteoartrose (WHO - Comparative Quantification of Health Risks, 2004).

Como consequência, o tratamento da obesidade e de suas doenças associadas acarretam gastos significativos ao sistema de saúde. Em 2011, os custos atribuíveis à obesidade no Brasil totalizaram R\$ 487,98 milhões, sendo estes apenas os gastos do sistema público de saúde, sem considerar os gastos dos planos de saúde e particulares (OLIVEIRA, 2013). O impacto econômico global da obesidade é de aproximadamente dois trilhões de dólares, mais ou menos

equivalente ao impacto global de tabagismo ou da violência armada, guerras e terrorismo (MCKINSEY GLOBAL INSTITUTE, 2014).

#### 4.1.1. Índice de Massa Corporal (IMC)

Para um correto diagnóstico de obesidade é necessário avaliar a quantidade de gordura corporal do indivíduo. No entanto, as técnicas de avaliação da composição corporal (densitometria corporal, água corporal total ou absorptiometria de Raios-X de dupla energia – DEXA, ressonância magnética, ultrassonografia, bioimpedância) são técnicas sofisticadas e muitas vezes inviáveis pelo custo e falta dos equipamentos necessários (ABESO, 2009).

Em 1981, Garrow sugeriu o uso do Índice de Massa Corporal (IMC) como critério para diagnóstico da obesidade (GARROW *apud* ANJOS, 2006). A partir de 1995, a OMS popularizou o uso do IMC na avaliação dos indivíduos. Assim, na prática usa-se o IMC, um índice simples que relaciona peso e altura. É calculado pelo peso do indivíduo em quilogramas dividido pela sua estatura em metros ao quadrado. O IMC não representa a composição corporal dos indivíduos, mas apresenta boa correlação com estimativas da composição corporal.

Segundo a classificação da OMS, são considerados obesos indivíduos com IMC maior ou igual a 30. Contudo, na interpretação do resultado deve ser observado que o índice não leva em consideração a proporção entre a medida da perna e do tronco, gênero e outros aspectos.

## 4.2 NUTRIÇÃO E OBESIDADE

O aumento da ingestão energética pode ser decorrente tanto da elevação quantitativa do consumo de alimentos como de mudanças na dieta que se caracterizem pela ingestão de alimentos com maior densidade energética, ou pela combinação dos dois (MENDONÇA & ANJOS, 2004).

Dietas evoluem ao longo do tempo, sendo influenciadas por muitos fatores e interações complexas. Renda, preços, preferências individuais e crenças, tradição cultural, bem como geográfica, ambiente, fatores sociais e econômicos todos interagem de forma complexa para moldar os padrões de consumo alimentar (WHO, 2003).

Nas últimas décadas várias regiões do globo, incluindo a América Latina, sofreram mudanças nos hábitos alimentares. Essas mudanças são marcadas pelo aumento do consumo de produtos animais contrastando com a queda no consumo de cereais e fibras, além do aumento no consumo de gorduras e açúcares na dieta (POPKIN, 2001).

De acordo com dados da Vigitel (2012), apenas 22,7% da população brasileira consome o recomendado de frutas e hortaliças, sendo que 26% da população consome regularmente refrigerantes e 31,5% tem o hábito de consumir carnes com gordura (VIGITEL, 2012).

#### 4.3 GENÉTICA E OBESIDADE

Geneticamente a obesidade pode se apresentar como uma doença sindrômica, monogênica ou poligênica (CLÉMENT & FERRÉ, 2003).

Obesidade é uma das características que acompanha pelo menos 25 síndromes genéticas como, por exemplo, Prader-Willi, Cohen Alstrom, Bardet-Biedl (CLÉMENT & FERRÉ, 2003). Na forma monogênica já foram descritos defeitos em oito genes envolvidos na diferenciação neuronal do núcleo paraventricular e na via de leptina/melanocortina que levam a formas monogênicas de início precoce da obesidade grave (CHOQUET & MEYRE, 2011), além de cinco genes envolvidos com formas recessivas de obesidade: *LEP*, *LEPR*, *POMC*, *PCSK1* and *MC4R* (CHOQUET & MEYRE, 2011).

Tanto as formas sindrômicas quanto as monogênicas, explicam apenas uma pequena porcentagem da obesidade na população. A obesidade poligênica é a forma que pode explicar a maioria dos casos. Uma hipótese amplamente aceita assume que as doenças complexas, tais como a obesidade, são relacionadas a um

número de alelos de predisposição, cada um conferindo um pequeno aumento no risco para o indivíduo (MARTI *et al*, 2004).

#### 4.4 ADIPONECTINA

Adiponectina, hormônio proteico de 28kDa produzido exclusivamente pelo tecido adiposo (SHERER *et al*, 1995), foi identificada em 1995 por 4 grupos diferentes, explicando o porquê de também ser conhecida como apM1, Acrp30, GBP28 e AdipoQ. Composta por 274 aminoácidos, possui uma sequência sinal N-terminal e um domínio globular C-terminal (SHERER *et al*, 1995), e pode ser encontrada em diferentes formas moleculares no plasma humano: trímero; hexâmero; octâmero; nonâmero e dodecâmero, sendo os três últimos frequentemente referenciados na literatura como adiponectina de alto peso molecular e o primeiro e o segundo como adiponectina de baixo e médio peso molecular, respectivamente. Um produto de clivagem proteolítica da adiponectina também pode ser encontrado no plasma humano, incluindo o domínio globular desta proteína (TSAO, 2014).

A meia vida da adiponectina no plasma é de 75 minutos, apresentando variações entre os diferentes oligômeros (HALBERG *et al*, 2009). Aproximadamente 30 minutos para trímeros e 80 minutos para adiponectina de alto peso molecular (HALBERG *et al*, 2009).

A concentração plasmática desse hormônio representa até 0,05% do total das proteínas plasmáticas (SHERER *et al*, 1995). Indivíduos obesos ou com sobrepeso apresentam níveis de adiponectinemia mais baixos do que indivíduos com peso normal (DANIELE *et al*, 2008), havendo uma forte correlação negativa entre IMC e níveis de adiponectina (ARITA *et al*, 1999). Fato que, a princípio, parece controverso, uma vez que a adiponectina é expressa apenas no tecido adiposo e indivíduos obesos apresentam grande quantidade deste tecido. No entanto, indivíduos obesos apresentam aumento na produção de citosinas pró-inflamatórias, como TNF-alfa, a qual tem um efeito inibitório na expressão de adiponectina (LI *et al*, 2009).

A concentração de adiponectina plasmática também mostra diferenças acentuadas entre homens e mulheres, sendo 1,5 vezes maior em mulheres (ARITA *et al*, 1999; HEID *et al*, 2006). Essa variação é devida a inibição da secreção da adiponectina de alto peso molecular pela testosterona (XU *et al*, 2005). A herdabilidade da adiponectinemia também é maior em mulheres, estimada em 65% para mulheres e 54% para homens (HEID *et al*, 2010).

AdipoR1, AdipoR2 e T-caderina (HUG *et al*, 2004), são as moléculas de superfície capazes de ligar a adiponectina. Os receptores AdipoR1 e AdipoR2 não possuem homologia com outras proteínas em mamíferos, embora sejam conservados de leveduras até humanos (YAMAGUCHI *et al*, 2003). O receptor AdipoR1 é expresso abundantemente em músculo esquelético, enquanto o AdipoR2 é predominantemente expresso no fígado (YAMAUCHI *et al*, 2003). Células beta pancreáticas também expressam receptores AdipoR1 e AdipoR2 (KHARROUBI *et al*, 2003).

Como efeito autócrino/parácrino, a adiponectina parece promover a diferenciação de adipócitos, o aumento da acumulação de lipídios e a captação de glicose em resposta a insulina através de uma maior expressão e translocação do receptor GLUT4 para a membrana plasmática de adipócitos maduros. Estes dados sugerem que a adiponectina atua para manter os adipócitos em torno de um equilíbrio de tamanho. Maiores níveis de adiponectina são encontrados em indivíduos magros, que possuem adipócitos menores, e menores níveis de adiponectina em indivíduos obesos, que possuem adipócitos maiores. Adipócitos submetidos a super-expressão de adiponectina possuem expressão dos receptores AdipoR1 e AdipoR2 diminuída, indicando um mecanismo de *feedback* negativo. (FU *et al*, 2005).

No fígado, a adiponectina inibe a liberação de glicose diminuindo assim os níveis sistêmicos de glicose. Atua sensibilizando os hepatócitos aos efeitos da insulina, de modo que a gluconeogênese é suprimida na presença de doses fisiológicas de insulina (BERG *et al*, 2001).

Em músculo esquelético, a ligação da adiponectina ao seu receptor provoca aumento da captação de glicose e oxidação de ácidos graxos livres (YAMAUCHI *et al*, 2003). A ativação sequencial de AMPK e p38 MAPK, que culmina com a ativação de PPAR- $\alpha$ , pode explicar como a adiponectina aumenta a oxidação de ácidos graxos em músculo esquelético (YOON *et al*, 2006).

Adiponectina também possui efeitos anti-inflamatórios diminuindo a produção de citosinas pró-inflamatórias como IL6, e TNF-alfa por macrófagos através da inibição da translocação do fator de transcrição NFκB (WULSTER-RADCLIFFE *et al*, 2004). Ao mesmo tempo aumenta a liberação de citosinas anti-inflamatórias, como Il-10 (WULSTER-RADCLIFFE *et al*, 2004). Adiponectina também induz a produção de óxido nítrico por células endoteliais (CHEN *et al*, 2003).

#### 4.4.1 ADIPOQ e o rs1501299

A adiponectina é codificada pelo gene *ADIPOQ*, expresso exclusivamente no tecido adiposo. Localizado no braço longo do cromossomo 3, locus 3q27, entre os marcadores D3S1571 e D3S1580, consiste em três éxons e dois íntrons (TAKAHASHI *at al*, 2000). Heid *et al* (2010) realizaram um estudo de *genome-wide association scans* (GWAS), no qual buscaram associação entre 73 polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) e níveis plasmáticos de adiponectina. Destes 73 SNPs inicialmente estudados, os 39 mais fortemente associados a adiponectinemia foram selecionados para replica em 13 795 indivíduos. A região do gene *ADIPOQ* foi identificada como a principal contribuinte para os níveis plasmáticos de adiponectina, não havendo diferença entre os sexos nesta associação (HEID *et al*, 2010).

O polimorfismo 276G>T (rs1501299), localizado no íntron 2 deste gene, já foi extensamente estudado em diversas populações, no entanto os resultados destas pesquisas se mostram controversos. Alguns estudos associam este SNP a adiponectinemia, resistência à insulina e maior IMC, enquanto outros não encontraram tais resultados.

Lu *et al* (2014), ao realizar uma meta-análise com 2630 indivíduos obesos e 2781 controles de etnicidade caucasiana ou asiática, concluiu que o alelo G276 está associado à obesidade em indivíduos caucasianos, mas não em asiáticos (LU *et al*, 2014). Enquanto Tu *et al* (2014), ao fazer uma meta-análise com esse mesmo polimorfismo em populações caucasiana e leste asiática encontrou associação entre o alelo G276 e diabetes mellitus tipo 2 em asiáticos, mas não em caucasianos. Após correção de Bonferroni a associação entre alelo G276 e diabetes mellitus tipo 2 em asiáticos é perdida no estudo de Tu (TU *et al*, 2014).



Bouatia-Naji *et al* (2006) relataram associação ( $p = 0,006$ ) entre o alelo 276T e obesidade grave ( $IMC \geq 40$ ) em população caucasiana francesa. Este estudo também reportou que o alelo está associado a níveis mais altos de adiponectina plasmática em crianças obesas, mas não em crianças com peso normal (BOUATIA-NAJI *et al*, 2006). Daniele *et al* (2008), ao estudar uma população do sul da Itália não encontrou associação entre o alelo 276T e obesidade grave (DANIELE *et al*, 2008).

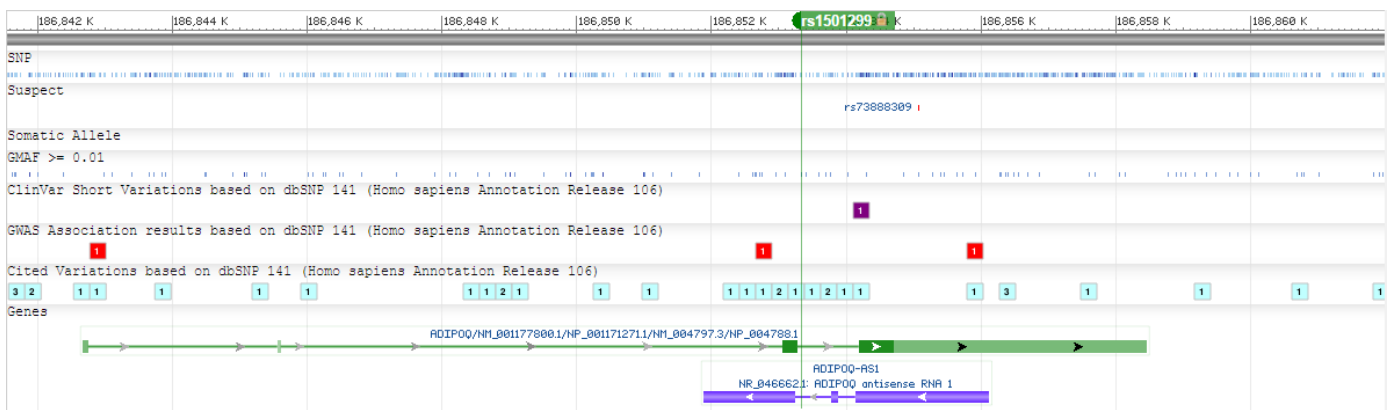


Figura 1 - Estrutura do gene *ADIPOQ*, locus 3q27, que consiste em três éxons e dois íntrons. Indicada a localização do polimorfismo 276G>T (rs1501299). Fonte: NCBI.

Beebe-Dimmer *et al* (2010), ao estudar homens adultos afro-americanos da região de Michigan encontrou associação entre o rs1501299 e obesidade. Indivíduos homocigotos para o alelo 276T, possuíam mais que o dobro de chance ( $OR=2,29$ ) de serem obesos se comparados a indivíduos homocigotos para o alelo G276 (BEEBE-DIMMER *et al*, 2010).

Duran-Gonzalez *et al* (2011), ao estudar jovens de origem mexicana residentes em Brownsville (sul do Texas) não conseguiu estabelecer associação entre o rs1501299 e o IMC, circunferência da cintura, glicose, triglicerídeos e resistência a insulina (DURAN-GONZALEZ *et al*, 2011).

Menzaghi *et al* (2002), ao estudar uma população italiana, concluíram que o alelo G está em desequilíbrio de ligação com o alelo T do SNP na posição 45 (rs2241766) do gene *ADIPOQ*, formando o haplótipo TG, o qual estaria associado a resistência a insulina, obesidade e hipoadiponectinemia, mas não ao diabetes. De acordo com os autores, os níveis de adiponectina demonstraram-se independentes

do IMC e dos níveis de insulina, sugerindo que a presença de baixos níveis de adiponectina seria o fator que influenciaria o desenvolvimento da obesidade e resistência a insulina, não o oposto. Como ambos os polimorfismos se encontram em regiões não codificantes e também não foram encontrados fatores reguladores nas regiões onde estão localizados, Menzaghi *et al* também sugerem que estes sejam marcadores para um terceiro polimorfismo ainda não identificado (MENZAGHI *et al*, 2002). Tu *et al* 2014, também sugerem que o rs1501299 forme um haplótipo com o rs2241766; em seu estudo o haplótipo seria GG ou TT, sendo o haplótipo GG associado ao diabetes tipo 2 (TU *et al*, 2014).

Portanto o SNP 276G>T parece contribuir, em determinadas populações, para o desenvolvimento da forma poligênica de obesidade, a qual é uma doença que reduz a qualidade de vida do indivíduo obeso e propicia o desenvolvimento de doenças secundárias, além de acarretar gastos significativos ao sistema de saúde. Evidencia-se assim a importância de estudar os fatores que influenciam o desenvolvimento desta doença para ampliar a compreensão sobre a obesidade e o controle de peso e assim serem desenvolvidas formas eficazes de conter o crescente aumento mundial da obesidade.

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 AMOSTRA

Foram incluídos na pesquisa 362 mulheres obesas, residentes em Curitiba e região metropolitana que compareceram ao convite feito na mídia local, atenderam aos critérios de inclusão e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), sendo que esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética da PUC-PR.

Dos 362 indivíduos incluídos na pesquisa, 282 compareceram à primeira etapa de coleta de sangue realizada nos dias 8 e 22 de outubro de 2011. Os indivíduos receberam atendimento nutricional individualizado, o qual abrange a avaliação do consumo alimentar, orientação dietética e orientação sobre a substituição por alimentos equivalentes aos presentes na dieta recomendada. Todos os atendimentos nutricionais individualizados foram realizados em salas de aula na PUCPR por graduandos do Curso de Nutrição da PUCPR. As palestras foram ministradas pela pesquisadora professora nutricionista em salas de aula na PUCPR.

O período de intervenção dietética totalizou 7 semanas. Após esse período, no dia 10 de dezembro de 2011, 185 indivíduos compareceram para a coleta de sangue.

Os indivíduos não incluídos, por opção ou por não atenderem aos critérios de inclusão, foram encaminhados a fazer acompanhamento nutricional gratuito na Clínica de Nutrição da PUCPR.

Como grupo controle não-obeso foram genotipadas 54 amostras do Biobanco Alpe. As quais eram mulheres euro-brasileiras com IMC normal, ou seja, entre 19 e 25.

### 5.1.1. Critérios de Inclusão

Foram adotados os seguintes critérios de inclusão: idade  $\geq 20$  anos; sexo feminino; portadora de obesidade grau I ( $30 < \text{IMC} < 35$ ) e II ( $\text{IMC} > 35$ ); pré-menopausa e saúde aparente.

### 5.1.2. Critérios De Exclusão

Foram excluídas mulheres fumantes, em tratamento dietoterápico ou medicamentoso para redução de peso, portadoras de doença crônica não controlada, diabetes tipo I, hipotireodismo e/ou doença renal crônica, ter feito cirurgia para redução de estômago, ser vegetariana, não ter disponibilidade para comparecer aos encontros na Universidade aos sábados.

## 5.2 INTERVENÇÃO ALIMENTAR

A intervenção dietética com restrição calórica, elaborada pela nutricionista Dr. Louise Farah Saliba, teve duração de nove semanas, duas semanas de pré-intervenção seguidas de sete semanas de intervenção, sem *follow-up*.

Os participantes contaram com duas sessões de orientação em grupo na qual foram instruídos sobre escolhas alimentares saudáveis e leitura de rótulos; uma sessão sobre atividade física que visava esclarecer sobre a prática de atividade física; e três sessões individuais. Sendo que todas estas ocorreram ao longo do período da intervenção.

As sessões individuais de nutrição foram realizadas por estudantes de graduação em Nutrição da PURPR com a supervisão da nutricionista pesquisadora responsável, a qual desenvolveu e aplicou também as sessões de Nutrição em grupo. Para a orientação dietética individual, foram desenvolvidos modelos de dieta padronizados, com um déficit calórico de 600 calorias/dia, a partir do protocolo do

estudo *Nutrient-Gene Interactions in Human Obesity: Implications for Dietary Guidelines (NUGENOB) protocol* (<http://www.nugenob.org>), em conjunto com as recomendações sobre ingestão de frutas, hortaliças e leguminosas do Guia Alimentar da População Brasileira (Brasil., 2008) e recomendações para controle de peso (Seagle *et al.*, 2009). Os modelos de dieta foram calculados com o software DietPro, com 1000 kcal até 2200 kcal, com intervalos de 100 kcal entre cada modelo, totalizando 13 opções de calorias. Para cada valor de calorias, foram calculadas as refeições com alimentos padronizados para café-da-manhã, almoço, lanche da tarde e duas opções, também padronizadas, de jantar, como arroz, salada e frango ou pão, queijo e salada, totalizando 26 modelos de dietas. Para definir o modelo de dieta prescrito, foi realizado o cálculo das necessidades energéticas (Seagle *et al.*, 2009) com um déficit de 600 kcal, sendo este déficit calórico, obtido em maior parte na redução de gordura dietética (Seagle *et al.*, 2009), focando 20%, o valor mínimo de ingestão dietética de gordura para adultos (Barr, 2006). Para definir entre uma das duas opções de jantar, foi identificado o hábito alimentar desta refeição previamente registrada no recordatório alimentar registrado na pré-intervenção. Para ampliar as opções de alimentos para as participantes do estudo, foi desenvolvida uma lista de substituições com alimentos saudáveis, também calculada no software DietPro. Para a escolha dos alimentos para compor esta lista foram priorizados aqueles com maior volume e menor densidade calórica.

### 5.3 PARÂMENTROS ANTROPOTOMÉTRICOS

Como parâmetros antropométricos foram coletados os dados de peso, estatura, circunferência da cintura e circunferência abdominal. O Índice de Massa Corporal foi utilizado para calcular a adiposidade corporal. Em relação à circunferência da cintura, valores >88 cm foram considerados como adiposidade abdominal. Os dados foram coletados antes do início da intervenção e na 8<sup>a</sup> semana.

#### 5.4. PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

Para análise dos parâmetros bioquímicos foi coletado sangue para realizar lipidograma (colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, triglicerídeos) e glicemia de jejum. Os dados foram coletados antes do início da intervenção e na 8<sup>a</sup> semana. Foram considerados os valores para colesterol total, como desejável: < 200; limítrofe: 200 a 239; alto: ≥ 240; para LDL, como ótimo: < 100; desejável: 100 a 129; limítrofe: 130 a 159; alto: 160 a 189; muito alto: ≥ 190; para HDL, como baixo: < 40; desejável: > 60; e para triglicérides, como desejável: < 150; limítrofe: 150 a 199; alto: 200 a 499; muito alto: ≥ 500.

#### 5.5 EXTRAÇÃO DE DNA

A extração de DNA foi realizada pelo método *salting out* (LAHIRI e NURNBERGER, 1991) . Foram coletados 10 mL de sangue em EDTA e o creme de leucócitos, acrescido de suspensão de hemácias, foi estocado a -20C. Desse material descongelado foi retirado o creme de leucócitos, que foi ressuscitado em 10 mL de TKM1 com a função de solubilizar a membrana das células (Tris-HCl 0,01 M pH 7,6; KCl 0,01 M; MgCl<sub>2</sub> 0,01 M; EDTA 0,002M) e 125 µL de IGEPAL CA-630 na intenção de lisar os leucócitos para liberar o DNA. Após centrifugar a 2500 rpm por 20 minutos, o sobrenadante foi desprezado e o volume foi completado novamente para 10 mL com TKM1. Repetiu-se a centrifugação e a ressuspensão em TKM1 até que o precipitado ficasse bem claro. O precipitado foi ressuscitado delicadamente e 800 µL de TKM2 (Tris-HCl 0,01 M pH7,6; KCl 0,01 M; MgCl<sub>2</sub> 0,01 M; EDTA 0,002 M; NaCl 0,4 M) foram adicionados, as amostras foram bem agitadas e a solução transferida para um tubo de 1,5 mL. Foram adicionados 50 µL de SDS 10% e misturado. Incubado em banho-maria a 55°C durante a noite, na intenção de homogeneizar a amostra. Após a retirada do banho-maria foram adicionados 300 µL de NaCl saturado (6 M) e misturado bem. Em seguida, centrifugou-se as amostras a 1200 rpm por 20 minutos, para que as proteínas fiquassem no precipitado e o DNA

no sobrenadante; o sobrenadante foi passado para um tubo de ensaio e adicionado dois volumes de etanol 100%, gelado, o tubo foi tampado com parafilme e invertido várias vezes (delicadamente) até precipitar o DNA. O DNA foi “pescado” utilizando micropipeta com ponteira de ponta cortada e colocado em tubo de 1,5 mL. O DNA obtido foi lavado com etanol 70%, dispensando posteriormente o álcool. Manteve-se o tubo semi-aberto na estufa a 37°C, até evaporar todo o álcool. Ressuspendeu-se o DNA em 200 µL de tampão TE (Tris HCl pH8,0 0,01 M e EDTA pH 8,0 0,001 M) e deixado no banho-maria a 55°C por até 3 dias. O material foi estocado a -20°C.

## 5.6 GENOTIPAGEM POR *TaqMAN*

Esta metodologia tem como base a atividade exonuclease 5’ da Taq DNA polimerase.

As sondas são marcadas com duas moléculas diferentes, *quencher* e *reporter*. O *quencher* localiza-se na extremidade 5’ e o *reporter* na extremidade 3’. Enquanto a sonda está intacta, o quencher absorve a energia emitida pelo repórter.

Se a sonda encontra uma sequência complementar ocorre o anelamento. Durante a fase de extensão a Polimerase Taq, adiciona nucleótidos a partir do DNA molde e exerce sua atividade exonuclease 5’, removendo a sonda Taqman®. Isso separa o *quencher* do *reporter*, e permite que o *reporter* possa emitir sua energia, que é então quantificada pelo equipamento. (APPLIED MATHS)

São utilizadas duas sondas diferentes, uma para a forma usual e outra para a forma variante, que emitem fluorescências diferentes, permitindo a identificação de quais alelos o indivíduo possui.

Para execução desse método foi quantificada a concentração das amostras de DNA no *NanoDrop*® e diluída, se necessário, a 20ng/µL. Em cada poço da placa foram adicionados 2µL de DNA; 0,3µL de primer; 4,2µ de água MiliQ e 4µL de polimerase TaqMan.

A fase de anelamento é de 2min a 50°C, seguida de 10 min a 95°C para desnaturação. Seguem-se 50 ciclos compostos de: 15s a 95°C para desnaturação e 1 min a 62°C para anelamento e extensão. Sendo finalizado por 2 min a 60°C para detecção final do fluoróforo.

## 5.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Frequências alélicas e genóticas foram obtidas por contagem direta, e a comparação entre grupos foi feita pelo teste de  $\chi^2$ , assim como o cálculo do equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Para testar a normalidade da distribuição das variáveis analisadas usamos o teste de Kolmogorov-Smirnov com correção de Lilliefors. As comparações entre médias foram feitas por teste-t, para as variáveis com distribuição paramétrica, e por teste de Mann-Whitney para variáveis com distribuição não paramétrica. Quando as análises eram pareadas (verificação do efeito da intervenção) utilizamos o teste de Wilcoxon para variáveis dependentes não paramétricas.

O valor da mediana dos dados antropométricos e bioquímicos foi obtido para a aplicação de testes comparativos de frequências alélicas, entre o grupo abaixo e acima da mediana. Também foram calculadas as diferenças entre os valores das variáveis bioquímicas e antropométricas iniciais e após a intervenção. Frequências alélicas foram calculadas para os indivíduos que apresentaram diferenças abaixo e acima da mediana, as quais foram comparadas através do teste de qui-quadrado.

Testes comparativos foram considerados significativos quando  $p < 0,05$  (5%).



**EFEITO DA VARIANTE 276G>T DO GENE *ADIPOQ* EM MULHERES OBESAS  
SUBMETIDAS A UM PROGRAMA DE INTERVENÇÃO DIETÉTICA**

Caroline Schovanz Schenknecht, Luciane Viater Tureck, (MS)<sup>a</sup>, Lupe Furtado-Alle (PhD)<sup>a</sup>

Laboratório de Polimorfismos e Ligação, Departamento de Genética, Universidade Federal do Paraná.

Endereço: Rua Francisco H dos Santos, 210. Centro Politécnico/ Setor de Ciências  
Biológicas/ Departamento de Genética/ Sala 43. Bairro Jardim das Américas. Curitiba – PR –  
Brazil. CEP 81531-970

E-mail: caroline.schenknecht@gmail.com

Telefone: (42) 9656 7755

**\*Conflito de interesse**

Os autores declaram não haver conflito de interesse.

## RESUMO

Adiponectina é um hormônio proteico expresso exclusivamente no tecido adiposo. No íntron 2 do gene que codifica a adiponectina, *ADIPOQ*, encontra-se o polimorfismo *276G>T* (rs1501299). O presente trabalho busca investigar a associação entre o polimorfismo *276G>T* do gene *ADIPOQ* e obesidade, avaliando o efeito deste variante na resposta à intervenção dietética em mulheres obesas, bem como avaliar a influência deste polimorfismo no perfil lipídico, perda de peso e variáveis antropométricas. Para tanto, 185 mulheres adultas pré-menopausa passaram por uma intervenção dietética com duração de 7 semanas e o polimorfismo *276G>T* do gene *ADIPOQ* foi genotipado pelo método *TaqMan*. A intervenção dietética resultou em diminuição do IMC, circunferência da cintura e razão cintura/estatura. Não foram encontradas alterações em LDL e triglicerídeos, embora tenha ocorrido redução significativa do HDL e colesterol total. Portadoras do genótipo GT apresentaram níveis médios de TG significativamente menores se comparados aos indivíduos homocigotos para o alelo comum (GG), e o alelo raro *276T* foi mais frequente dentre os indivíduos que apresentaram maior redução de TG após a intervenção.

Palavras chave: adiponectina, *276G>T*, rs1501299, obesidade, *ADIPOQ*, intervenção dietética.

## 1. INTRODUÇÃO

Adiponectina, hormônio proteico de 28kDa (SHERER, 1995), também conhecida como apM1, Acrp30, GBP28 e AdipoQ, é produzido exclusivamente pelo tecido adiposo (SHERER; 1995). Tem função autócrina e parácrina, promovendo diferenciação e o aumento da acumulação de lipídios em adipócitos maduros (FU, 2005), e endócrina, atuando como um potente sensibilizador a insulina no músculo e no fígado, regulando a homeostase energética e tolerância à glicose. (BERG, 2001; YAMAUCHI, 2003). Apesar de produzida exclusivamente pelo tecido adiposo, indivíduos obesos ou com sobrepeso apresentam níveis plasmáticos de adiponectina menores que indivíduos com peso normal (DANIELE, 2008).

Adiponectina é o produto do gene *ADIPOQ*, *locus* 3q27, entre os marcadores D3S1571 e D3S1580, que consiste em três éxons e dois íntrons (TAKAHASHI, 2000). O polimorfismo 276G>T (rs1501299), localizado no íntron 2 deste gene, já foi extensamente estudado em diversas populações e estaria associado aos níveis de adiponectina plasmática (HEID, 2006; POLLIN, 2005; HARA, 2002; MENZAGHI, 2002; KYRIAKOU, 2008), resistência a insulina (MENZAGHI, 2002) e obesidade (BEEBE-DIMMER, 2010; BOUATIA-NAJI, 2006; LU, 2014; MENZAGHI, 2002).

O objetivo do presente estudo foi investigar se o polimorfismo 276G>T está associado a prevalência da obesidade, e concomitantemente, avaliar a influência desta variante na resposta à intervenção dietética personalizada.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Intervenção Alimentar

A intervenção dietética com restrição calórica teve duração de nove semanas, duas semanas de pré-intervenção seguidas de sete semanas de intervenção, sem *follow-up*.

As participantes contaram com duas sessões de orientação em grupo; uma sessão sobre atividade física; e três sessões individuais. Foram desenvolvidos modelos de dieta padronizados, com um déficit calórico de 600 calorias/dia, variando entre 1000 kcal até 2200 kcal. a partir do protocolo do estudo *Nutrient-Gene Interactions in Human Obesity: Implications for Dietary Guidelines (NUGENOB) protocol* (<http://www.nugenob.org>), do Guia Alimentar da População Brasileira (Brasil., 2008) e recomendações da *American Dietetic Association's* para controle de peso (Seagle *et al.*, 2009). Para mais detalhes sobre a intervenção dietética consulte Saliba *et al* (2014).

### 2.2. Amostra

Foram incluídas na pesquisa 362 mulheres obesas pré-menopausa, residentes em Curitiba e região metropolitana, que compareceram ao convite feito na mídia local, atenderam aos critérios de inclusão e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Critérios de inclusão: idade  $\geq 20$  anos, sexo feminino, portadora de obesidade grau I ( $30 < \text{IMC} < 35$ ) e II ( $\text{IMC} > 35$ ), saúde aparente. Critérios de exclusão: mulheres fumantes, em tratamento dietoterápico ou medicamentoso para redução de peso, portadoras de doença crônica não controlada, diabetes tipo I, hipotireodismo e/ou doença renal crônica, cirurgia para redução de estômago, ser vegetariana. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (parecer número 0005306/11).

Dos 362 indivíduos incluídos na pesquisa, 185 efetivamente concluíram a intervenção dietética. Como grupo controle não-obeso, foram genotipadas 54 amostras de doadoras de sangue de Curitiba/PR, constituída por mulheres euro-brasileiras com IMC entre 19 e 25.

### 2.3. Parâmetros Antropométricos e Bioquímicos

Amostras de sangue foram coletados antes do início da intervenção e na 8<sup>a</sup> semana para análise de colesterol total (CT), colesterol LDL (LDL-C), colesterol HDL (HDL-C) e triglicerídeos (TG). Foram medidos peso (Kg), estatura (m), circunferência da cintura (cm) e circunferência abdominal (cm) antes do início da intervenção e na 8<sup>a</sup> semana. O Índice de Massa Corporal (IMC) ( $\text{kg/m}^2$ ) foi utilizado para calcular a adiposidade corporal (mulheres com  $\text{IMC} \geq 30$  foram inclusas no estudo).

### 2.4. Extração de DNA e Genotipagem

A extração de DNA foi realizada pelo método *salting out* a partir de leucócitos do sangue periférico, como descrito previamente por Lahiri e Nurnberger (1991). A genotipagem foi conduzida pelo método *TaqMan*® SNP Genotyping Assay (*Applied Biosystems*), utilizando o equipamento Mastercycler Realplex 2. O programa de PCR consistiu em 2min a 50°C, seguido de 10 min a 95°C, 50 ciclos compostos de 15s a 95°C e 1 min a 62°C.

### 2.5. Análise estatística

Frequências alélicas e genotípicas foram obtidas por contagem direta e a comparação entre grupos foi feita pelo teste de  $\chi^2$ , assim como o cálculo do equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Para testar a normalidade da distribuição das variáveis analisadas usamos o teste de Kolmogorov-Smirnov com correção de Lilliefors. As comparações entre médias foram feitas por teste-t, para as variáveis com distribuição paramétrica, e por teste de Mann-Whitney para

variáveis com com distribuição não paramétrica. Quando as análises eram pareadas (verificação do efeito da intervenção) utilizamos o teste de Wilcoxon para variáveis dependentes não paramétricas e teste-t pareado para variáveis paramétricas.

O valor da mediana dos dados antropométricos e bioquímicos foi obtida para a aplicação de testes comparativos de frequências alélicas, entre o grupo abaixo e acima da mediana. Também foram calculadas as diferenças entre os valores das variáveis bioquímicas e antropométricas iniciais e após a intervenção. Frequências alélicas foram calculadas para os indivíduos que apresentaram diferenças abaixo e acima da mediana, as quais foram comparadas através do teste de qui-quadrado.

Testes comparativos foram considerados significativos quando  $p < 0,05$  (5%).

### 3. RESULTADOS

Este estudo verificou o efeito do polimorfismo 276G>T do gene *ADIPOQ* em resposta a uma intervenção dietética, aplicada em uma amostra composta por mulheres pré-menopausa obesas. Efeitos significativos foram encontrados quanto a eficácia da intervenção, bem como a influência do polimorfismo nesse contexto.

Foram genotipadas amostras de 185 mulheres para o SNP 276G>T genotipado. As frequências alélicas e genóticas estão demonstradas nas tabelas 1 e 2, respectivamente. Para verificar se determinado alelo e/ou genótipo desse SNP é mais frequente entre as mulheres obesas da nossa amostra, comparamos suas respectivas frequências com as encontradas em um grupo de 54 mulheres com peso normal, considerado um grupo controle (Tabela 1 e 2). Não foram encontradas diferenças entre a frequência alélica ( $p=0,7683$ ) ou distribuição genotípica ( $p=0,1721$ ) entre os dois grupos, demonstrando que o alelo *T276* não está associado à incidência da obesidade nesta população. Ambas as populações se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

A intervenção dietética se mostrou eficaz na perda de peso e redução de medidas, diminuindo significativamente o peso ( $p<0,0001$ ), IMC ( $p<0,0001$ ), circunferência da cintura ( $p<0,0001$ ) e razão cintura/altura ( $p<0,0001$ ). Embora a intervenção tenha reduzido o colesterol total de maneira significativa ( $p=0,01$ ), ela não foi eficaz na melhora do perfil lipídico, não alterando significativamente triglicerídeos e LDL ( $p>0,05$ ), trazendo ainda um efeito indesejado, a diminuição do HDL ( $p<0,0001$ ) (Tabela 3).

As médias dos parâmetros antropométricos (Tabela 4) e bioquímicos (Tabela 5) foram comparadas entre os portadores do alelo raro *T276* e os não portadores deste alelo (homozigotos para o alelo *G276*), tanto antes da intervenção quanto após. Não houve diferença significativa nas médias das variáveis analisadas entre portadores e não portadores do alelo *T276* antes ou depois da intervenção dietética. Nota-se apenas que, inicialmente, os

portadores do alelo *T276* apresentaram tendência estatística ( $p=0,09$ ) a menor média de IMC se comparado à média dos indivíduos homozigotos para o alelo comum, entretanto após a intervenção essa tendência não pode mais ser observada (Tabela 4), sugerindo que os fatores ambientais se sobrepuseram a influência genética.

Para avaliar ainda o efeito do SNP 276G>T sobre os marcadores de obesidade investigados, foi obtida a mediana de cada parâmetro e dois grupos foram formados: indivíduos que apresentaram valores das variáveis abaixo, e indivíduos com valores acima da mediana. As frequências alélicas entre esses dois grupos foram comparadas, antes da intervenção (Tabela 6) e após (Tabela 7). Não houve diferença nas frequências alélicas entre os grupos acima e abaixo da mediana antes, nem depois da intervenção.

As médias das variáveis estudadas foram comparadas duas a duas, entre os três possíveis genótipos do SNP 276G>T, no grupo com valores abaixo, e no grupo com valores acima da mediana antes da intervenção. Entre os indivíduos com valores iniciais acima da mediana, os heterozigotos (GT) apresentaram níveis médios significativamente menores de TG comparados aos indivíduos homozigotos para o alelo comum (GG) ( $p=0,0473$ ), sendo que entre os indivíduos com valores iniciais abaixo da mediana encontramos resultado semelhante, porém com tendência estatística apenas ( $p=0,0597$ ) (Tabela 8). Para esse mesmo teste as outras variáveis não apresentaram resultados significativos ( $p>0,05$ ) (dados não mostrados).

Já ao analisar o efeito do SNP sobre a resposta a intervenção, através da comparação das frequências alélicas do grupo acima e abaixo da mediana das diferenças (antes-depois da intervenção) entre os valores das variáveis, encontramos que o alelo *T276* foi mais frequente em indivíduos acima da mediana, demonstrando que esse alelo foi mais frequente entre as mulheres que apresentaram maior redução nos níveis séricos de colesterol total ( $p=0,0437$ ) em resposta a intervenção dietética (Tabela 9).



#### 4. DISCUSSÃO

A intervenção dietética aplicada nas mulheres obesas participantes do estudo foi efetiva na redução da adiposidade. Esse resultado foi representado através da diminuição significativa do peso, circunferência da cintura e da razão cintura/altura. Tais melhorias representam um importante ganho para a saúde e qualidade de vida dessas mulheres, tendo em vista que medidas de cintura elevadas são indicativas de depósitos de gordura visceral, o que aumenta o risco para doenças crônicas (REXRODE, 1998; LAPIDUS, 1984). Mesmo com a redução de quatro centímetros de cintura as mulheres não atingiram o limiar de valores recomendados (abaixo de 80 cm), possivelmente a intervenção dietética combinada a intervenção física seria mais eficaz na redução dessa medida.

Embora as participantes se enquadrassem em um perfil de obesidade segundo as medidas de IMC, elas possuíam um perfil lipídico normal desde o início da intervenção, apresentando valores de LDL-C, HDL-C, TG e CT dentro dos níveis desejados. Apesar de ter ocorrido diminuição significativa nos níveis de HDL-C, este parâmetro também permaneceu dentro do limiar considerado desejável, sendo que esse efeito foi semelhante ao observado por Thompson *et al.* (1979) e Aicher *et al.* (2012) que também obtiveram redução nos valores de HDL-C após a perda de peso por intervenção dietética. O aumento dos valores de HDL-C, o que acarreta em importante fator cardioprotetivo (GORDON, 1989), é mais frequentemente observado em estudos que aplicam intervenções físicas (VARADY, 2011; WILLIAMS, 1983; WILLIAMS, 1990). Williams *et al.* (1983) concluíram que a perda de peso associada a exercício é fortemente associada ao aumento de HDL, no entanto perda de peso na ausência de exercício não necessariamente acarreta mudanças nas concentrações plasmáticas de HDL-C, provavelmente devido a diferenças nos processos fisiológicos que acompanham a perda de peso através de exercício, e através da restrição dietética apenas. Apesar das intervenções dietéticas parecem não mostrar alteração em HDL durante o período de ativa perda de peso

(WOLF and GRUNDY, 1983; ZIMMERMAN, 1984) ou ainda mostrar uma diminuição dos níveis séricos desta lipoproteína (THOMPSON,1979; AICHER, 2012), estudos que contam com *follow up* demonstram que com a estabilização do peso corporal um aumento significativo na concentração de HDL se torna evidente (THOMPSON,1979; WOLF and GRUNDY, 1983; ZIMMERMAN, 1984).

Tendo em vista o importante papel da adiponectina nos contextos de obesidade, síndrome metabólica e dislipidemias, este trabalho contou com a avaliação da influência do polimorfismo 276G>T em relação as mudanças nas variáveis bioquímicas e antropométricas analisadas, frente a intervenção dietética aplicada.

Nós mostramos que entre os indivíduos que apresentaram valores de TG acima da mediana antes da intervenção, os portadores do genótipo GT apresentam níveis de triglicerídeos menores que os indivíduos portadores do genótipo GG, conferindo aos portadores do genótipo heterozigoto um efeito protetor. Quanto a influência do polimorfismo nos efeitos da intervenção, encontramos que o alelo 276T foi mais frequente entre as mulheres que apresentaram maior redução nos níveis de CT. Estudos associaram o alelo 276T a maiores níveis de adiponectina (HEID, 2006; POLLIN, 2005; HARA, 2002; MENZAGHI, 2002; KYRIAKOU, 2008). Por outro lado, baixas concentrações deste hormônio foram associados a aumento dos triglicerídeos (CHAN, 2005; SAIKI, 2007) e também a diminuição da atividade e concentração da LPL (lipase lipoproteica) (EYNATTEN, 2004; SAIKI, 2007) e ao aumento de apo-B48, VLDL, remanescentes de colesterol e apoC-III (CHAN; 2005).

Embora não se tenha certeza da relação direta entre baixos níveis de adiponectina e a ocorrência de dislipidemias (LARA-CASTRO, 2007; GABLE, 2006; HEID, 2006) , sabe-se que a adiponectina atua sobre o metabolismo lipídico através da ativação de múltiplas vias celulares que culminam na modulação de enzimas chave da produção das lipoproteínas, como

é o caso da (LPL) e lipase hepática (LH) (LARA-CASTRO, 2007), além de uma ampla gama de interações que conferem a adiponectina uma atuação bastante complexa e sistêmica.

Os triglicerídeos são hidrolizados nos quilomícrons e VLDL pela LPL, dando origem às lipoproteínas de densidade intermediária (IDL), uma parcela da IDL é removida pelo fígado, mas grande parte sofre nova hidrólise de triglicerídeos pela LH, sendo a partir daí convertida em LDL-C (KERSTEN, 2014). Níveis elevados de adiponectina aumentam a expressão e atividade da LPL, aumentando dessa forma a hidrólise das VLDLs, e indiretamente diminuindo os níveis de TG circulantes (QIAO, 2008; COMBS, 2004; EYNATTEN, 2004; VRIES, 2005), o que também acarreta na diminuição do colesterol total. Além disso, resultados de Neumeier *et al* (2006) levam a crer que em humanos a adiponectina pode influenciar também a síntese de partículas ricas em triglicerídeos. Ao estudar hepatócitos humanos expostos a adiponectina de alto peso molecular eles observaram a diminuição da secreção de ApoB e ApoE, indicando uma possível diminuição da liberação de VLDL do fígado. Portanto, baixas concentrações de triglicerídeos podem ser explicadas pela diminuição da síntese de VLDL e aumento da atividade da LPL que leva ao aumento do catabolismo de quilomícrons e partículas de VLDL.

Alguns fatores podem ter desempenhado papel limitante em nosso estudo, como o tamanho amostral pequeno, que pode não ter permitido a visualização de outros resultados relevantes. Estudos funcionais, correlacionando o polimorfismo genético aos níveis circulantes da proteína são também necessários para elucidar as questões levantadas.

Em conclusão foi possível estabelecer que sete semanas com restrição de 600 calorias se mostrou eficaz na diminuição da gordura corpórea, mas não na alteração do perfil lipídico das mulheres obesas do nosso estudo. Além disso, sugerimos que o polimorfismo  $276G>T$  do gene *ADIPOQ* pode ter influenciado o metabolismo lipídico, uma vez que foi verificado efeito protetor do genótipo heterozigoto (GT) quanto aos níveis de triglicerídeos, bem como a

frequência elevada do alelo 276T entre as mulheres que apresentaram maior redução nos níveis de CT.

**Conflito de interesse**

Os autores declaram não haver conflito de interesse.

## REFERÊNCIAS

Aicher BO, Haser EK, Freeman LA, Carnie AV, Stonik JA, Wang X, Remaley AT, Kato GJ e Cannon RO (2012) Diet-Induced Weight Loss in Overweight or Obese Women and Changes in High-Density Lipoprotein Levels and Function. *Obesity* 20: 2057-2062.

Beebe-Dimmer JL, Zuhlke KA, Ray AM, Lange EM, Cooney KA (2010) Genetic Variation in Adiponectin (*ADIPOQ*) and the Type-1 Receptor (*ADIPOR1*), Obesity and Prostate Cancer in African Americans. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases* 13: 362–368.

Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M e Scherer PE (2001) The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nature Medicine* 7: 947-953.

Bouatia-Naji N, Meyre D, Lobbens S, Séron K, Fumeron F, Balkau B, Heude B, Jouret B, Scherer PE, Dina C *et al* (2006) ACDC/Adiponectin Polymorphisms Are Associated With Severe Childhood and Adult Obesity. *Diabetes* 55: 545–550.

Brasil. (2008) Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável. Brasília: Ministério da Saúde. Brasília.

Chan DC, Watts GF, Ng TWK, Uchida Y, Sakai N, Yamashita S e Barrett PHR (2005) Adiponectin and other Adipocytokines as Predictors of Markers of Triglyceride-Rich Lipoprotein Metabolism. *Clinical Chemistry* 51:578–585.

Combs TP, Pajvani UB, Berg AH, Lin Y, Jelicks LA, Laplante M, Nawrocki AR, Rajala MW, Parlow AF, Cheeseboro L *et al* (2004) A transgenic mouse with a deletion in the collagenous domain of adiponectin displays elevated circulating adiponectin and improved insulin sensitivity. *Endocrinology* 145: 367–383.

Daniele A, Cammarata R, Pasanisi F, Finelli C, Salvatori G, Calcagno G, Bracale R, Labruna G, Nardelli C, Buono P *et al*. (2008) Molecular Analysis of the Adiponectin Gene in Severely Obese Patients from Southern Italy. *Annals Nutrition & Metabolism* 53:155–161.

Eynatten M, Schneider Jg, Humpert Pm, Rudofsky G, Schmidt M, Barosch P, Hamann A, Morcos M, Kreuzer J, Bierhaus A (2004) Decreased Plasma Lipoprotein Lipase in Hypoadiponectinemia. *Diabetes Care* 27:2925–2929.

Fu Y, Luo N, Klein RL e Garvey WT (2005) Adiponectin promotes adipocyte differentiation, insulin sensitivity, and lipid accumulation. *Journal of Lipid Research* 46: 1369-1379.

Gable DR, Hurel SJ e Humphries SE (2006) Adiponectin and its gene variants as risk factors for insulin resistance, the metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 188: 231–244.

Gordon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ, Neaton JD, Castelli WP, Knoke JD, Jacobs DR Jr, Bangdiwala S, Tyroler HA (1989) High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. *Circulation* 79:8-15.

Hara K, Boutin P, Mori Y, Tobe K, Dina C, Yasuda K, Yamauchi T, Otabe S, Okada T, Eto K *et al* (2002) Genetic Variation in the Gene Encoding Adiponectin Is Associated With an Increased Risk of Type 2 Diabetes in the Japanese Population. *Diabetes* 51: 536-540.

Heid IM, Wagner SA, Gohlke H, Iglseder B, Mueller JC, Cip P, Ladurner G, Reiter R, Stadlmayr A, Mackevics V *et al* (2006) Genetic architecture of the APM1 gene and its influence on adiponectin plasma levels and parameters of the metabolic syndrome in 1727 healthy Caucasians. *Diabetes* 55:375–84.

Kersten S. (2014) Physiological regulation of lipoprotein lipase. *Biochimica et Biophysica Acta* 1841:919–933.

Kyriakou T, Collins LJ, Soencer-Jones NJ, Malcom C, Wang X, Snieder H, Swaminathan R, Burling KA, Hart DJ, Spector TD *et al* (2008) Adiponectin gene *ADIPOQ* SNP associations with serum adiponectin in two female populations and effects of SNPs on promoter activity. *Journal of Human Genetics* 53:718-727.

Lahiri DK e NurnbergerJR (1991) A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Research* 19: 5444.

Lapidus L, Bengtsson C, Larsson B, Pennert K, Rybo E, Sjostrom (1984) Distribution of adipose tissue and risk of cardiovascular disease and death: a 12 year follow up of participants in the population study of women in Gothenburg, Sweden. *British Medical Journal* 289:1257-1261.

Lara-Castro C, Fu Y, Chung BH e Garvey WT (2007) Adiponectin and the metabolic syndrome: mechanisms mediating risk for metabolic and cardiovascular disease. *Current Opinion in Lipidology* 18:263–270.

Lu JF, Zhou Y, Huang GH, Jiang HX, Hu BL e Qin SY (2014) Association of ADIPOQ polymorphisms with obesity risk: A meta-analysis. *Human Immunology* 10:1062-1068.

Menzaghi C, Ercolino T, Paola RD, Berg AH, Warram JH, Scherer PE, Trischitta V e Doria A (2002) A Haplotype at the Adiponectin Locus Is Associated With Obesity and Other Features of the Insulin Resistance Syndrome. *Diabetes* 51:2306-2312.

Neumeier M, Sigrüener A, Eggenhofer E, Weigert J, Weiss TM, Schaeffler A, Schlitt HJ, Aslanidis C, Piso P, Langmann T *et al.* (2007) High molecular weight adiponectin reduces apolipoprotein B and E release in human hepatocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 352:543–548.

Pollin TI, Tanner K, O'Connell JR, Ott SH, Damcott CM, Shuldiner AR, McLenithan JC e Mitchell BD (2005) Linkage of Plasma Adiponectin Levels to 3q27 Explained by Association With Variation in the *APMI* Gene. *Diabetes* 54: 268-274.

Qiao L, Zou C, Westhuyzen DR e Shao J (2008) Adiponectin Reduces Plasma Triglyceride by Increasing VLDL Triglyceride Catabolism. *Diabetes* 57: 1824–1833.



Rexrode KM, Carey VJ, Hennekens CH, Walters EE, Colditz GA, Stampfer MJ, Willet WC, Manson JE (1998) Prognostic impact of body weight and abdominal obesity in women and men with cardiovascular disease. *American Medical Association* 280: 1843-1848.

Saiki A, Oyama T, Endo K, Ebisuno M, Ohira M, Koide N, Murano T, Miyashita Y e Shirai K (2007) Preheparin serum lipoprotein lipase mass might be a biomarker of metabolic syndrome. *Diabetes Research and Clinical Practice* 76: 93–101.

Saliba LF, Reis RS, Browson RC, Hino AA, Tureck LV, Valko C, de Souza RL, Furtado-Alle L (2014) Obesity-related gene *ADRB2*, *ADRB3* and *GHRL* polymorphisms and the response to a weight loss diet intervention in adult women. *Genetics and Molecular Biology* 37: 15-22.

Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G e Lodish HF (1995) A Novel Serum Protein Similar to C1q, Produced Exclusively in Adipocytes. *The Journal of Biological Chemistry* 270: 26746–26749.

Seagle HM, Strain GW, Makris A, Reeves RS (2009) Position of the American Dietetic Association: weight management. *Journal of the American Dietetic Association* 109:330-346.

Takahashi M, Arita Y, Yamagata K, Matsukawa Y, Okutomi K, Horie M, Shimomura I, Hotta K, Kuriyama H, Kihara S *et al* (2000) *International Journal of Obesity* 24:861-868

Thompson PD, Jeffrey RW, Wing RR, Wood PD (1979) Unexpected decrease in plasma high densitylipoprotein cholesterol with weight loss. *The American Journal of Clinical Nutrition* 32: 2016-2021.

Varady KA, Bhutani S, Klempel MC e Kroeger CM (2011) Comparison of effects of diet versus exercise weight loss regimens on LDL and HDL particle size in obese adults. *Lipids in Health and Disease* 10:119.

Vries R, Wolffenbuttel BH, Sluiter WJ, vanTol A, Dullaart RP (2005) Post-heparin plasma lipoprotein lipase, but not hepatic lipase activity, is related to plasma adiponectin in type 2 diabetic patients and healthy subjects. *Clin Lab* 51: 403–409.

Williams PT, Wood PD, Krauss RM, Haskell WL, Vranizan KM, Blair SN, Terry R e Farquhar JW (1983) Does Weight Loss Cause the Exercise-induced Increase in Plasma High Density Lipoproteins? *Atherosclerosis* 47: 173.

Williams PT, Krauss RM, Vranizan KM, e Wood PD (1990) Changes in Lipoprotein Subfractions During Diet-Induced and Exercise-Induced Weight Loss in Moderately Overweight Men. *Circulation* 81:1293-1304.

Wolf RN and Grundy SM (1983) Influence of weight reduction on plasma lipoproteins in obese patients. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 3:160-169.

Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizok T, Kita S, Sugiyama T, Miyagishi M, Hara K, Tsunodaq M *et al.* (2003) Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* 423: 762-769.

Zimmerman J, Kaufmann NA, Fainaru M, Eisenberg S, Oschry Y, Friedlander Y e Stein Y (1984) Effect of Weight Loss in Moderate Obesity on Plasma Lipoprotein and Apolipoprotein Levels and on High Density Lipoprotein Composition. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 4:115-123.

Tabela 1 - Frequências alélicas ( $\% \pm$  desvio padrão) do polimorfismo  $276G>T$  do gene *ADIPOQ* em mulheres obesas e em um grupo controle de indivíduos não obesos, e sua comparação (p).

	Obesas	Controle
T	30% $\pm$ 0,023	31% $\pm$ 0,044
G	70% $\pm$ 0,023	68% $\pm$ 0,044

$$x^2 = 0,195481; p = 0,7683$$

Tabela 2 - Distribuição genotípica (%) da variante  $276G>T$  do gene *ADIPOQ* em mulheres obesas pré menopausa e no grupo controle de indivíduos não obesos, e sua comparação (p).

	Obesas	Controle
GG	45,4%	48%
TG	49,2%	41%
TT	5,4%	11%

$$x^2 = 3,519062699; p = 0,1721$$

Tabela 3 – Comparação (p) das médias ( $\pm$ DP) das variáveis antropométricas e bioquímicas antes (média pré) e depois (média pós) da intervenção dietética.

	(n)	MÉDIA PRÉ	MEDIA PÓS	p
Peso (kg)	135	90,70 $\pm$ 14,7	88,34 $\pm$ 14,7	<0,0001
Cintura (cm)	132	95,73 $\pm$ 9,9	91,73 $\pm$ 11,1	<0,0001
IMC (kg)/(m <sup>2</sup> )	135	35,04 $\pm$ 5,3	34,12 $\pm$ 5,3	<0,0001
Razão cintura/altura	132	0,595 $\pm$ 0,06	0,570 $\pm$ 0,07	<0,0001
HDL (mg/dl)	131	52,30 $\pm$ 12,8	47,75 $\pm$ 11,0	<0,0001
LDL (mg/dl)	136	112,59 $\pm$ 30,1	111,65 $\pm$ 28,9	0,5
Colesterol Total (mg/dl)	136	192,55 $\pm$ 37,0	188,11 $\pm$ 35,2	0,01*
Triglicerídeos (mg/dl)	134	138,77 $\pm$ 62,4	143,50 $\pm$ 74,4	0,91

Tabela 4 – Comparação (p) das médias ( $\pm$ DP) das variáveis antropométricas entre portadoras do alelo raro 276T (GT+TT) e homozigotas para o alelo usual 276G (GG), em mulheres obesas antes e depois da intervenção dietética com restrição calórica.

VARIÁVEIS	ANTES			DEPOIS		
	GT+TT (n=38)	GG (n=48)	p	GT+TT (n=38)	GG (n=47)	p
IMC (kg)/(m <sup>2</sup> )	34,45 $\pm$ 5,4	35,24 $\pm$ 5,0	0,09*	33,51 $\pm$ 5,6	34,380 $\pm$ 4,98	0,28
Circunferência da cintura (cm)	94,53 $\pm$ 10,1	96,43 $\pm$ 10,2	0,29	91,997 $\pm$ 12,74	93,877 $\pm$ 12,18	0,5
Razão cintura/altura	58,28 $\pm$ 5,9	60,06 $\pm$ 7,0	0,16	56,489 $\pm$ 7,64	58,07 $\pm$ 7,69	0,43

Tabela 5 - Comparação (p) das médias ( $\pm$ DP) das variáveis bioquímicas estudadas entre portadoras do alelo raro 276T (GT+TT) e homozigotas para o alelo usual 276G (GG), em mulheres obesas antes e depois da intervenção dietética com restrição calórica.

VARIÁVEIS	ANTES			DEPOIS		
	GT+TT (n=55)	GG (n=61)	p	GT+TT (n=40)	GG (n=47)	p
CT (mg/dl)	194,38 $\pm$ 37,9	192,13 $\pm$ 38,3	0,75	197,77 $\pm$ 39,1	187,93 $\pm$ 29,2	0,18
TG (mg/dl)	145,76 $\pm$ 88,6	136,11 $\pm$ 58,1	0,54	146,62 $\pm$ 75,2	148,38 $\pm$ 80,1	0,77
HDL-C (mg/dl)	51,78 $\pm$ 12,4	53,03 $\pm$ 14,1	0,55	49,60 $\pm$ 10,8	47,59 $\pm$ 11,3	0,28
LDL-C (mg/dl)	113,13 $\pm$ 29,4	111,87 $\pm$ 30,0	0,94	118,85 $\pm$ 30,9	110,66 $\pm$ 24,9	0,19

Tabela 6- Frequência dos alelos *G276* e *276T* ( $\pm$  DP) observadas nos grupos acima e abaixo da mediana, obtida das variáveis estudadas antes da intervenção dietética.

PRÉ-INTERVENÇÃO DIETÉTICA						
Variáveis	Mediana	ABAIXO DA MEDIANA		ACIMA DA MEDIANA		p
		Freq $\pm$ DP	Freq $\pm$ DP	Freq $\pm$ DP	Freq $\pm$ D	
		Alelo <i>G276</i>	Alelo <i>T276</i>	Alelo <i>G276</i>	Alelo <i>T276</i>	
IMC (kg)/(m <sup>2</sup> )	33,91	0,73 $\pm$ 0,01	0,26 $\pm$ 0,01	0,65 $\pm$ 0,02	0,35 $\pm$ 0,02	0,155
Circunferência da cintura (cm)	93,9	0,72 $\pm$ 0,01	0,27 $\pm$ 0,01	0,65 $\pm$ 0,02	0,34 $\pm$ 0,02	0,229
Razão cintura/altura	0,58	0,73 $\pm$ 0,01	0,26 $\pm$ 0,01	0,64 $\pm$ 0,02	0,35 $\pm$ 0,02	0,127
HDL-C (mg/dl)	50	0,7 $\pm$ 0,01	0,3 $\pm$ 0,01	0,71 $\pm$ 0,01	0,28 $\pm$ 0,01	0,769
LDL-C (mg/dl)	109,8	0,72 $\pm$ 0,01	0,27 $\pm$ 0,01	0,69 $\pm$ 0,01	0,30 $\pm$ 0,01	0,592
TG (mg/dl)	131	0,72 $\pm$ 0,01	0,27 $\pm$ 0,01	0,68 $\pm$ 0,01	0,31 $\pm$ 0,01	0,442
CT (mg/dl)	187	0,71 $\pm$ 0,01	0,28 $\pm$ 0,01	0,69 $\pm$ 0,01	0,30 $\pm$ 0,01	0,659

Tabela 7- Frequência dos alelos *G276* e *T276* ( $\pm$  DP) observadas nos grupos acima e abaixo da mediana, obtida das variáveis estudadas após a intervenção dietética.

PÓS-INTERVENÇÃO DIETÉTICA						
Variáveis	Mediana	ABAIXO DA MEDIANA		ACIMA DA MEDIANA		p
		Freq $\pm$ DP	Freq $\pm$ DP	Freq $\pm$ DP	Freq $\pm$ DP	
		Alelo <i>G276</i>	Alelo <i>T276</i>	Alelo <i>G276</i>	Alelo <i>T276</i>	
IMC (kg)/(m <sup>2</sup> )	32,95	0,73 $\pm$ 0,01	0,26 $\pm$ 0,01	0,65 $\pm$ 0,02	0,34 $\pm$ 0,02	0,151
Circunferência da cintura (cm)	90,5	0,71 $\pm$ 0,01	0,28 $\pm$ 0,01	0,67 $\pm$ 0,01	0,32 $\pm$ 0,01	0,543
Razão cintura/altura	0,56	0,71 $\pm$ 0,01	0,28 $\pm$ 0,01	0,67 $\pm$ 0,01	0,32 $\pm$ 0,01	0,468
HDL-C (mg/dl)	46	0,67 $\pm$ 0,01	0,32 $\pm$ 0,01	0,73 $\pm$ 0,01	0,26 $\pm$ 0,01	0,289
LDL-C (mg/dl)	110,7	0,65 $\pm$ 0,02	0,34 $\pm$ 0,02	0,74 $\pm$ 0,01	0,25 $\pm$ 0,01	0,132
TG (mg/dl)	123	0,72 $\pm$ 20,01	0,27 $\pm$ 0,01	0,68 $\pm$ 0,01	0,31 $\pm$ 0,01	0,538
CT (mg/dl)	188	0,67 $\pm$ 0,02	0,32 $\pm$ 0,02	0,72 $\pm$ 0,01	0,27 $\pm$ 0,01	0,367



Tabela 8 – Comparação (p) das médias dos níveis plasmáticos de triglicerídeos (média±DP) entre as portadoras dos três possíveis genótipos da variante 276G>T, comparadas duas a duas, no grupo que apresentou valores de TG abaixo, e no grupo com valores de TG acima da mediana antes da intervenção.

TRIGLICERÍDEOS (TG)							
ABAIXO DA MEDIANA				ACIMA DA MEDIANA			
GG	GT	TT	p	GG	GT	TT	p
(n=43)	(n=43)	(n=3)		(n=37)	(n=44)	(n=5)	
97,09±19,2	89,02±19,2		0,0597*	204,75±96,6	170.84±43,5		0,0473*
97,09±19,2		96,33±27,7	0,9489	204,75±96,6		181,40±34,3	0,9245
	89,02±19,2	96,33±27,7	0,5505		170.84±43,5	181,40±34,3	0,2786

*Mediana= 131mg/dl*

Tabela 9 – Comparação (p) das frequências dos alelos *G276* e *276T* ( $\pm$  DP) observadas nos grupos abaixo e acima da mediana (mediana obtida das diferenças das variáveis: valores/níveis iniciais – valores/níveis finais) para a resposta a intervenção dietética.

DIFERENÇA (PRÉ-PÓS INTERVENÇÃO) DOS VALORES DAS VARIÁVEIS						
Variáveis	Mediana	ABAIXO DA MEDIANA		ACIMA DA MEDIANA		p
		Freq $\pm$ DP	Freq $\pm$ DP	Freq $\pm$ DP	Freq $\pm$ DP	
		Alelo G276	Alelo T276	Alelo G276	Alelo T276	
IMC (kg)/(m <sup>2</sup> )	0,842	0,72 $\pm$ 0,01	0,27 $\pm$ 0,01	0,66 $\pm$ 0,02	0,33 $\pm$ 0,02	0,2967
Peso (kg)	2,25	0,72 $\pm$ 0,01	0,27 $\pm$ 0,01	0,66 $\pm$ 0,02	0,33 $\pm$ 0,02	0,2967
Circunferência da cintura (cm)	4	0,71 $\pm$ 0,01	0,28 $\pm$ 0,01	0,66 $\pm$ 0,02	0,33 $\pm$ 0,02	0,3871
HDL-C (mg/dl)	4	0,70 $\pm$ 0,01	0,29 $\pm$ 0,01	0,70 $\pm$ 0,01	0,29 $\pm$ 0,01	1
LDL-C (mg/dl)	1,4	0,74 $\pm$ 0,01	0,25 $\pm$ 0,01	0,66 $\pm$ 0,02	0,33 $\pm$ 0,02	0,1604
TG (mg/dl)	0,5	0,69 $\pm$ 0,01	0,30 $\pm$ 0,01	0,71 $\pm$ 0,01	0,28 $\pm$ 0,01	0,6553
CT (mg/dl)	4,5	0,76 $\pm$ 0,01	0,23 $\pm$ 0,01	0,644 $\pm$ 0,02	0,355 $\pm$ 0,02	0,0437*

## 7 CONCLUSÃO

O objetivo deste trabalho foi investigar se há associação entre o variante G276T do gene *ADIPOQ* e a obesidade em mulheres adultas pré-menopausa da região metropolitana de Curitiba e também avaliar o efeito deste variante na resposta à intervenção dietética com restrição calórica que teve duração de 7 semanas.

Com base no trabalho realizado, conclui-se que o polimorfismo 276G>T não está associado a prevalência de obesidade em mulheres adultas pré-menopausa da região metropolitana de Curitiba e também não influenciou em parâmetros antropométricos e bioquímicos. No entanto, o alelo 276T parece propiciar a redução do colesterol após uma intervenção dietética com restrição calórica e indivíduos que possuem o genótipo GT, dentro do grupo que apresentou trigliceríemia mais elevada, parecem apresentar níveis de triglicerídeos mais baixos que os demais.

## 8 REFERÊNCIAS

AICHER, B.O.; HASER, E.K.; FREEMAN, L.A. *et al.* Diet-Induced Weight Loss in Overweight or Obese Women and Changes in High-Density Lipoprotein Levels and Function. **Obesity**, v 20, p 2057-2062, 2012.

ANJOS, L.A. **Obesidade e Saúde Pública**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2006.

APPLIED MATHS, Taqman-based SNP genotyping. Disponível em: <<http://www.applied-maths.com/applications/taqman-based-snp-genotyping>> Acessado em 12/12/2014.

ARITA, Y.; KIHARA, S.; OUCHI, N. *et al.* Paradoxical Decrease of an Adipose-Specific Protein, Adiponectin, in Obesity. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v 257, p79–83, 1999.

Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica (Abeso). **Diretrizes Brasileiras de Obesidade**. 3ª Edição, São Paulo, 2009.

BEEBE-DIMMER, J.L.; ZUHLKE, K.A.; RAY, A.M. *et al.* Genetic Variation in Adiponectin (*ADIPOQ*) and the Type-1 Receptor (*ADIPOR1*), Obesity and Prostate Cancer in African Americans. **Prostate Cancer and Prostatic Diseases**, v 13, p 362–368, 2010.

BERG, A.H.; COMBS, T.P.; DU, X.; BROWNLEE, M.E. e SCHERER, P.E. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. **Nature Medicine**, v 7, p 947-953, 2001.

Brasil. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável**. Brasília: Ministério da Saúde. Brasília, 2008.

BARR S. I. Introduction to dietary reference intakes. **Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme**, v 31, p 61-65, 2006.

BOUATIA-NAJI, N.; MEYRE, D.; LOBBENS, S. *et al.* ACDC/Adiponectin Polymorphisms Are Associated With Severe Childhood and Adult Obesity. **Diabetes**, v 55, p 545–550. 2006.

CHAN, D.C.; WATTS, G.F.; NG, T.W.K *et al.* Adiponectin and other Adipocytokines as Predictors of Markers of Triglyceride-Rich Lipoprotein Metabolism. **Clinical Chemistry**, v 51, p 578–585, 2005.

CHEN, H.; MONTAGNANI, M.; FUNAHASHI, T. *et al.* Adiponectin Stimulates Production of Nitric Oxide in Vascular Endothelial Cells. **The Journal of Biological Chemistry**, v 278(45), p 45021–45026, 2003.

CHOQUET, H; MEYRE, D. Molecular Basis of Obesity: Current Status and Future Prospects. **Current Genomics**, v 12, p 154-168, 2011.

CLÉMENT, K; FERRÉ, P. Genetics and the Pathophysiology of Obesity. **Pediatric Research**, v 53(5), p 721-725, 2003.

COMBS, T.P.; PAJVANI, U.B.; BERG, A.H. *et al* A transgenic mouse with a deletion in the collagenous domain of adiponectin displays elevated circulating adiponectin and improved insulin sensitivity. **Endocrinology**, v 145, p 367–383, 2004.

DANIELE, A.; CAMMARATA, R.; PASANISI, F. *et al.* Molecular Analysis of the Adiponectin Gene in Severely Obese Patients from Southern Italy. **Annals Nutrition & Metabolism**, v 53, p155–161, 2008.

DURAN-GONZALEZ, J.; ORTIZ, I.; GONZALES, E. *et al.* Association Study of Candidate Gene Polymorphisms and Obesity in a Young Mexican-American Population from South Texas. **Archives of Medical Research**, v42(6), 523-531, 2011.

EYNATTEN, M.; SCHNEIDER, J.G.; HUMPERT, P.M. *et al.* Decreased Plasma Lipoprotein Lipase in Hypoadiponectinemia. **Diabetes Care**, v 27,p 2925–2929, 2004.

FU, Y.; LUO, N.; KLEIN, R.L. e GARVEY, W.T. Adiponectin promotes adipocyte differentiation, insulin sensitivity, and lipid accumulation. **Journal of Lipid Research**, v 46, p 1369-1379, 2005.

GABLE, D.R.; HUREL, S.J. E HUMPHRIES, S.E. Adiponectin and its gene variants as risk factors for insulin resistance, the metabolic syndrome and cardiovascular disease. **Atherosclerosis**, v 188, p 231–244, 2006.

GORDON, D.J.; PROBSTFIELD, J.L.; GARRISON, R.J. High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. **Circulation**, v 79, p 8-15, 1989.

HALBERG, N; SCHRAW T.D.; WANG, Z.V. *et al.* Systemic Fate of the Adipocyte-Derived Factor Adiponectin. **Diabetes**, v 58, p1961-1970, 2009.

HARA, K *et al.* Genetic Variation in the Gene Encoding Adiponectin Is Associated With An Increased Risk Of Type 2 Diabetes In The Japanese Population. **Diabetes**, v5, p536-540, 2002.

HASLAM, D. Obesity: a medical history. **Obesity reviews**, v 8(1), p 31–36, 2007.

HEID, I.M.; WAGNER S.A.; GOHLKE, H. *et al.* Genetic architecture of the APM1 gene and its influence on adiponectin plasma levels and parameters of the metabolic syndrome in 1727 healthy Caucasians. **Diabetes**, v55, p375–84, 2006.

HEID, I. M. *et al.* Clear detection of ADIPOQ locus as the major gene for plasma adiponectin: results of genome-wide association analyses including 4659 European individuals. **Atherosclerosis**, v 208(2): p 412-420, 2010.

HUG, C.; WANG, J.; AHMAD, N.S. *et al.* T-cadherin is a receptor for hexameric and high-molecular-weight forms of Acrp30/adiponectin. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v101(28), p10308-10313, 2004.

KERSTEN, S. Physiological regulation of lipoprotein lipase. **Biochimica et Biophysica Acta**. v 1841, p919–933, 2014.

KHARROUBI, I.; RASSCHAERT, J.; EIZIRIK, D.L. *et al.* Expression of adiponectin receptors in pancreatic *b* cells **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v312, p1118–1122, 2013.

KYRIAKOU, T.; COLLINS, L.J.; SOENCER-JONES, N.J. *et al.* Adiponectin gene *ADIPOQ* SNP associations with serum adiponectin in two female populations and effects of SNPs on promoter activity. **Journal of Human Genetics**, v 53, p 718-727, 2008.

LAHIRI, D.K. e NURNBERGER, J.R. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. **Nucleic Acids Research**, v 19, p 5444, 1991.

LAPIDUS, L; BENGTSSON, C.; LARSSON, B. Distribution of adipose tissue and risk of cardiovascular disease and death: a 12 year follow up of participants in the population study of women in Gothenburg, Sweden. **British Medical Journal**, v 289, p1257-1261, 1984

LARA-CASTRO, C.; FU, Y.; CHUNG, B.H. *et al.* Adiponectin and the metabolic syndrome: mechanisms mediating risk for metabolic and cardiovascular disease. **Current Opinion in Lipidology**, v 18, p263–270, 2007.

LI, L.; YANG, G.; SHI, S. *et al.* The adipose triglyceride lipase, adiponectin and visfatin are downregulated by tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in vivo. **Cytokine**, v45, p12–19, 2009.

LU, J.F.; ZHOU, Y.; HUANG, G.H.; JIANG, H.X.; HU, B.L. E QIN, S.Y. Association of ADIPOQ polymorphisms with obesity risk: A meta-analysis. **Human Immunology**, v 10, p1062-1068, 2014.

MCKINSEY GLOBAL INSTITUTE, **Overcoming obesity: An initial economic analysis**. 2014

MARTI, A *et al.* Genes, lifestyles and obesity. **International Journal of Obesity**, v 28, p S29–S36, 2004.

MENDONÇA, C. P.; ANJOS, L. A. Aspectos das práticas alimentares e da atividade física como determinantes do crescimento do sobrepeso/obesidade no Brasil. **Caderno Saúde Pública**, v 20(3), p 698-709, 2004.

MENZAGHI, C *et al.* A Haplotype at the Adiponectin Locus Is Associated With Obesity and Other Features of the Insulin Resistance Syndrome. **Diabetes**, v 51, p 2306-2312, 2002.

NCBI, Reference SNP (refSNP) Cluster Report: rs1501299. Disponível em: <[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp\\_ref.cgi?rs=1501299](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1501299)> Acesso em 12/12/2014.

NEUMEIER, M.; SIGRUENER, A.; EGGENHOFER, E. *et al.* High molecular weight adiponectin reduces apolipoprotein B and E release in human hepatocytes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v 352, p 543–548, 2007.

OLIVEIRA, M.L. **Estimativa Dos Custos Da Obesidade Para O Sistema Único De Saúde Do Brasil**. 109F. Tese (Doutorado em Nutrição Humana). Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

PIJL, H. Obesity: evolution of a symptom of affluence. **The Netherlands Journal of Medicine**, v 69(4), 2011.

POLLIN, T.I.; TANNER, K.; O'CONNELL, J.R., *et al.* Linkage of Plasma Adiponectin Levels to 3q27 Explained by Association With Variation in the *APM1* Gene. **Diabetes**, v 54, p 268-274, 2005.

POPKIN, B. M. The Nutrition Transition and Obesity in the Developing World. **The Journal of Nutrition**, v 131, p 871s–873s, 2001.

QIAO, L.; ZOU, C.; WESTHUYZEN, D.R. e SHAO, J. Adiponectin Reduces Plasma Triglyceride by Increasing VLDL Triglyceride Catabolism. **Diabetes**, v 57, p 1824–1833, 2008.

REXRODE, K.M.; CAREY, V.J.; HENNEKENS, C.H. (1998) Prognostic impact of body weight and abdominal obesity in women and men with cardiovascular disease. **American Medical Association**, v 280(21), p 1843-1848.

SAIKI, A.; OYAMA, T.; ENDO, K. *et al.* Preheparin serum lipoprotein lipase mass might be a biomarker of metabolic syndrome. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v 76, p 93–101, 2007.

SALIBA, L.F.; REIS, R.S.; BROWSON, R.C.; HINO, A.A. *et al.* Obesity-related gene *ADRB2*, *ADRB3* and *GHRL* polymorphisms and the response to a weight loss diet intervention in adult women. **Genetics and Molecular Biology**, v 37, p 15-22, 2014.

SEAGLE, H.M.; STRAIN, G.W.; MAKRIS, A.; REEVES, R.S. Position of the American Dietetic Association: weight management. **Journal of the American Dietetic Association**, v 109, p 330-346, 2009.

SHERER, P.E. *et al.* A Novel Serum Protein Similar to C1q, Produced Exclusively in Adipocytes. **The journal of Biological Chemistry**, v 270(45), 26746–26749, 1995.



TAKAHASHI, M.; ARITA, Y.; YAMAGATA, K. *et al.* Genomic structure and mutations in adipose-specific gene, adiponectin. **International Journal of Obesity**, v24,p 861-868, 2000.

TSAO, T.S. Assembly of adiponectin oligomers. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, v15, p125-136, 2014.

THOMPSON, P.D.; JEFFREY, R.W.; WING, R.R.; *et al.* Unexpected decrease in plasma high densitylipoprotein cholesterol with weight loss. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v 32, p 2016-2021, 1979.

TU, Y.; YU, Q.; FAN, G. *et al.* Assessment of type 2 diabetes risk conferred by SNPs rs2241766 and rs1501299 in the *ADIPOQ* gene, a case/control study combined with meta-analyses. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v 396, p 1–9, 2014.

VARADY, K.A.; BHUTANI, S.; KLEMPPEL, M.C. *et al.* Comparison of effects of diet versus exercise weight loss regimens on LDL and HDL particle size in obese adults. **Lipids in Health and Disease**, v 10, p 119, 2011.

VIGITEL BRASIL 2012: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. **Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção de Saúde. Brasília : Ministério da Saúde, 2013.**

VRIES, R.; WOLFFENBUTTEL, B.H.; SLUITER, W.J. *et al.* Post-heparin plasma lipoprotein lipase, but not hepatic lipase activity, is related to plasma adiponectin in type 2 diabetic patients and healthy subjects. **Clin Lab**, v 51, p 403–409, 2005.

XU, A.; CHAN, K.W.; HOO, R.L.C. *et al.* Testosterone Selectively Reduces the High Molecular Weight Form of Adiponectin by Inhibiting Its Secretion from Adipocytes. **The Journal of Biological Chemistry**, v280(18), p 18073–18080, 2005

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), **Obesity and overweight**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>> Acesso em 02/08/2013

WHO. Diet, Nutrition And The Prevention Of Chronic Diseases. **WHO Technical Report Series**. V 916, 2003.

WHO. Comparative Quantification of Health Risks. **World Health Organization**. V1, 2004.

WHO. **Obesity (body mass index  $\geq 30$ ) Data by WHO region**. Disponível em: <<http://apps.who.int/gho/data/view.main.2480?lang=en>> Acesso em 24/11/2014.

WILLIAMS, P.T.; WOOD, P.D.; KRAUSS, R.M. *et al.* Does Weight Loss Cause the Exercise-induced Increase in Plasma High Density Lipoproteins? **Atherosclerosis**, v 47, p 173, 1983.

WILLIAMS, P.T.; KRAUSS, R.M.; VRANIZAN, K.M. *et al.* Changes in Lipoprotein Subfractions During Diet-Induced and Exercise-Induced Weight Loss in Moderately Overweight Men. **Circulation**, v 81, p 1293-1304, 1990.

WOLF, R.N. and GRUNDY, S.M. Influence of weight reduction on plasma lipoproteins in obese patients. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v 3 p160-169, 1983.

WULSTER-RADCLIFFE, M.C.; AJUWON, K.M.; WANG, J *et al* Adiponectin differentially regulates cytokines in porcine macrophages. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v316, p 924–929, 2004.

YAMAUCHI, T.; KAMON, J.; ITO, Y. *et al.* Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. **Nature**, v423, p762-769, 2003.

YOON, M.J.; LEE, G.Y.; CHUNG, J.J. *et al.* Adiponectin Increases Fatty Acid Oxidation in Skeletal Muscle Cells by Sequential Activation of AMP-Activated Protein Kinase, p38 Mitogen-Activated Protein Kinase, and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\alpha$ . **Diabetes**, v55(9), p 2562-2570, 2006.

ZIMMERMAN, J.; KAUFMANN, N.A.; FAINARU, M. *et al.* Effect of Weight Loss in Moderate Obesity on Plasma Lipoprotein and Apolipoprotein Levels and on High Density Lipoprotein Composition. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v 4, p115-123, 1984.